

HIỆU QUẢ CỦA BÀO TỬ *BACILLUS SUBTILIS* BIỂU HIỆN INTERFERON ALPHA GÀ TRONG PHÒNG BỆNH GUMBORO TRÊN GÀ

Hồ Thị Việt Thu¹

ABSTRACT

A study on efficiency of recombinant Bacillus subtilis expressed chicken interferon alpha (ChIFN α - B. subtilis) in prevention of Gumboro disease for chickens was carried out in 3 week old chickens by oral supply 100 μ g of ChIFN α - B. subtilis spores per chicken and comparing the efficiency of standard ChIFN α with dose of 10⁴UI/chicken. The experimented results showed that after challenging by virulent Newcastle disease virus with dose of 4x10⁴ ELD₅₀ per experimented chicken, the survive rate of chickens in ChIFN α - B. subtilis treatment was (79.17%) higher than that of chickens in standard ChIFN α treatment (45.83%) and than that of B. subtilis control (12.50%). Our results suggest that ChIFN α - B. subtilis could be potentially useful in the prevention of Gumboro disease in chickens.

Keywords: ChIFN α - B. subtilis, Gumboro, chickens

Title: Efficiency of recombinant Bacillus subtilis expressed chicken interferon alpha (ChIFN α - B. subtilis) in prevention of Gumboro disease in chickens

TÓM TẮT

Nghiên cứu hiệu quả phòng bệnh của bào tử Bacillus subtilis biểu hiện interferon alpha gà (ChIFN α - B. subtilis) trong phòng bệnh Gumboro cho gà được thực hiện trên giống gà 3 tuần tuổi. Thí nghiệm được thực hiện bằng thử nghiệm cho mỗi gà uống 100 μ g bào tử ChIFN α - B. subtilis, sau đó công cường độc virus Gumboro độc lực cao với 4 x 10⁴ ELD₅₀, đồng thời so sánh hiệu quả của ChIFN α chuẩn với liều 10⁴UI. Kết quả thử nghiệm cho thấy B. ChIFN α - B. subtilis có khả năng phòng bệnh Gumboro với tỷ lệ bảo hộ là 77,08% cao hơn so với tỷ lệ bảo hộ bởi ChIFN α (66,67% và so với đối chứng B. subtilis (12,50%). Kết quả thí nghiệm chứng minh ChIFN α - B. subtilis có tiềm năng trong việc phòng bệnh Gumboro trên gà.

Từ khóa: ChIFN α - B. subtilis, Gumboro, gà

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Gumboro là bệnh truyền nhiễm cấp tính của gà do virus gây ra, đặc trưng bởi sự tổn thương túi Fabricius, làm suy giảm khả năng miễn dịch của gà, làm gia tăng nguy cơ nhiễm bệnh và giảm khả năng đáp ứng miễn dịch khi tiêm phòng. Bệnh gây tổn thất kinh tế lớn do tỷ lệ bệnh rất cao có thể lên đến 100% và tỷ lệ chết có thể từ 20-50% (Phạm Sĩ Lăng và Nguyễn Thiện, 2004). Do đó, việc phòng bệnh Gumboro cho gà là điều cần thiết.

Do kháng sinh không thể điều trị được bệnh, do đó một khi dịch bệnh xảy ra gây tổn thất rất lớn. Ngày nay, với sự phát triển của công nghệ sinh học interferon alpha (IFN- α) đã được sản xuất với qui mô lớn và chứng minh có hiệu quả trong

¹Bộ môn Thú Y, Khoa NN&SHUD, Trường Đại học Cần Thơ

việc phòng và trị đối với một số bệnh do virus trên người (Livonesi *et al.*, 2007) và động vật (Mo *et al.*, 2001; Marcus *et al.*, 1999). Năm 2009, bộ môn Vi sinh Ký sinh – Khoa Dược, Đại học Y Dược thành phố HCM đã nghiên cứu thành công qui trình sản xuất *Bacillus subtilis* biểu hiện interferon alpha gà (ChIFN α - *B. subtilis*) và bước đầu thử nghiệm cho thấy sản phẩm này có hiệu quả trong việc ức chế sự nhân lên của virus Gumboro trong điều kiện *in vitro* (Nguyễn Ngọc Ân *et al.*, 2010). Do đó, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu khả năng phòng bệnh Gumboro của sản phẩm này trong điều kiện *in vivo*.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện thí nghiệm

2.1.1 Đối tượng thí nghiệm

Gà giống Tam Hoàng 1 ngày tuổi từ trại gà giống ở Vĩnh Long, được nuôi tại trại thực nghiệm, Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Gà được kiểm tra kháng thể thụ động kháng virus Gumboro khi đạt 3 tuần tuổi tại phòng thí nghiệm virus học bộ môn Thú y Khoa Nông nghiệp và Sinh học ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ. Tất cả gà cho kết quả âm tính với phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch (AGP-Agarose Gel Precipitation) sẽ được sử dụng làm thí nghiệm. Tổng số gà thí nghiệm là 120 con (24 gà dùng cho thí nghiệm khảo sát độc lực virus Gumboro và 96 gà dùng trong thí nghiệm khảo sát hiệu quả ChIFN α -*B. subtilis*).

2.1.2 Vật liệu thí nghiệm

Virus Gumboro có độc lực cao được xác định bằng kỹ thuật RT-PCR (nguồn NAVETCO) và thí nghiệm trên gà và phôi gà.

Bacillus subtilis và *B. subtilis* biểu hiện Interferon alpha gà (ChIFN α - *B. subtilis*) được sản xuất từ bộ môn Vi sinh Ký sinh- khoa Dược, Đại Học Y Dược, Tp. Hồ Chí Minh; ChIFN α chuẩn của hãng *GenWay* Biotech (USA).

Kháng nguyên và kháng thể chuẩn kháng virus Gumboro (Australian animal health laboratory, CSIRO, Australia).

Agarose và các sinh phẩm cần thiết dùng trong phản ứng AGP.

The Synbiotics ProFLOK® Infectious bursal antibody (IBD⁺) ELISA kit (Synbiotic, USA)

Vaccine Gumboro, vaccine đậu gà, vaccine cúm gia cầm, vaccine Newcastle, vaccine tụ huyết trùng gia cầm (nguồn NAVETCO).

Trứng gà có phôi 9 – 11 ngày tuổi (dùng thí nghiệm tính liều gây chết 50% phôi-ELD50: embryo lethal dose 50%)

2.1.3 Thiết bị và dụng cụ

Máy ly tâm lạnh, ELISA reader (Multiskan, Japan), micropipette, dụng cụ đục lỗ thạch và những vật tư cần thiết dùng dùng trong phản ứng AGP.

2.2 Phương pháp thí nghiệm

2.2.1 Chuẩn bị gà làm thí nghiệm, xác định liều gây chết 50% phôi gà (ELD50 - Embryo lethal dose 50%)

Gà 1 ngày tuổi được mua về để cho gà ổn định và nuôi đến ba tuần tuổi mới đưa vào thí nghiệm. Trong quá trình nuôi, gà được phòng các bệnh truyền nhiễm khác trừ bệnh Gumboro bằng vaccine hoặc kháng sinh theo qui trình (bảng 1). Gà được lấy máu tim để kiểm tra kháng thể thụ động kháng virus Gumboro ở 7, 14 và 21 ngày tuổi bằng phản ứng AGP. Lúc gà đạt 21 ngày tuổi, tất cả đều không còn kháng thể kháng virus Gumboro và được đưa vào thí nghiệm.

Bảng 1: Quy trình phòng bệnh cho gà thí nghiệm

Ngày tuổi	Tên vaccine	Cách tiêm ngừa
3	Newcastle	Nhỏ mắt mũi
10	Đậu	Chung qua cánh
15	Cúm	Tiêm dưới da cổ
21	Newcastle	Nhỏ mắt mũi
30	Cúm	Tiêm dưới da cổ
40	Tụ huyết trùng	Tiêm dưới da cổ

Trước khi tiến hành thí nghiệm chúng tôi đồng thời chuẩn độ virus Gumboro trên phôi gà ấp 10 ngày tuổi để xác định liều gây chết 50% phôi. Kỹ thuật gây nhiễm phôi được thực hiện theo phương pháp của Hitchner (1970) và liều gây chết 50% phôi được tính theo Reed and Muench (1938).

2.2.2 Bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu gồm 2 thí nghiệm: thí nghiệm 1: xác định độc lực của virus Gumboro trên gà 3 tuần tuổi và thí nghiệm 2: khảo sát khả năng phòng bệnh Gumboro của các sinh phẩm: ChIFN- α chuẩn và ChIFN α - *B. subtilis*.

Thí nghiệm 1: Xác định độc lực virus Gumboro trên gà thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Gà được nuôi và chăm sóc ở các điều kiện như nhau. Ở nghiệm thức virus, gà được cho uống 0,3 ml huyền dịch virus Gumboro có chứa 4×10^4 ELD₅₀. Gà ở nghiệm thức đối chứng được cho uống 0,3 ml dung dịch PBS (phosphate buffered saline). Bố trí thí nghiệm được trình bày qua bảng 2.

Bảng 2: Thí nghiệm khảo sát độc lực của virus Gumboro đối với gà thí nghiệm

Nghiệm thức	Số lần lặp lại	Số gà trong một nghiệm thức	Liều	Đường cấp
ĐC	3	12	0,3ml/con	Uống
Virus	3	12	4×10^4 ELD ₅₀ /0,3ml/con	Uống

ĐC: đối chứng; Virus: gà gây nhiễm với virus Gumboro

Gà thí nghiệm ở mỗi lô được nuôi cách biệt tránh sự lây nhiễm giữa gà ở nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức gây nhiễm virus, được chăm sóc trong những điều

kiện như nhau. Hằng ngày chúng tôi quan sát triệu chứng bệnh, ghi chép số bệnh, chết, và mổ khám gà chết để kiểm tra bệnh tích.

Thí nghiệm 2: Khảo sát hiệu quả phòng bệnh của ChIFN α - *B. subtilis* trong phòng bệnh Gumboro

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Mỗi đơn vị thí nghiệm gồm 8 gà 3 tuần tuổi được nuôi và chăm sóc với những điều kiện giống nhau. Gà được uống sinh phẩm 6 giờ trước khi công cường độc 4×10^4 ELD₅₀ virus Gumboro. Bố trí thí nghiệm và liều lượng sinh phẩm được trình bày qua bảng 3.

Bảng 3: Thí nghiệm khảo sát khả năng phòng bệnh của IFN chuẩn và ChIFN α - *B. subtilis* đối với bệnh Gumboro

Nghiệm thức	Số lần lặp lại	Số gà trong một nghiệm thức	Liều	Đường cấp
Vaccine Gumboro	3	24	1 liều/0,1ml	Uống
ChIFN α chuẩn	3	24	10 ⁴ UI	Uống
ChIFN α - <i>B.subtilis</i>	3	24	100 μ g	Uống
<i>B.subtilis</i>	3	24	100 μ g	Uống

Trong thời gian thí nghiệm, tiến hành quan sát và theo dõi gà ở các nghiệm thức, ghi nhận số gà bệnh, chết. Tiến hành mổ khám quan sát bệnh tích và lấy bệnh phẩm từ gà chết. Mẫu bệnh phẩm (lách, gan, túi Fabricius, tuyến ức) được sử dụng để kiểm tra virus Gumboro bằng phản ứng AGP. Gà khỏi bệnh sẽ được lấy máu để kiểm tra kháng thể đặc hiệu kháng virus Gumboro bằng xét nghiệm ELISA.

2.3 Chỉ tiêu theo dõi

Tỷ lệ gà được bảo hộ = $\{(Số\ gà\ thí\ nghiệm - Số\ gà\ bệnh) / Số\ gà\ thí\ nghiệm\} \times 100$

Tỷ lệ gà chết = $(Số\ gà\ chết / Số\ gà\ thí\ nghiệm) \times 100$

Tỷ lệ mẫu bệnh phẩm dương tính với kháng nguyên qua xét nghiệm kết tủa khuếch tán trên thạch (AGP).

Tỷ lệ gà có đáp ứng kháng thể kháng virus Gumboro qua xét nghiệm ELISA.

Tần suất xuất hiện triệu chứng và bệnh tích ở gà thí nghiệm.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm Minitab 13.2 (Ryan *et al.*, 2000) được sử dụng để phân tích số liệu, phương pháp Chi-square được sử dụng để so sánh tỷ lệ bệnh và tỷ lệ chết.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả khảo sát độc lực virus Gumboro

Kết quả theo dõi tỷ lệ gà bệnh và chết sau khi gây nhiễm virus Gumboro được thể hiện qua bảng 4.

Bảng 4: Tỷ lệ gà bệnh và chết trong thí nghiệm gây nhiễm virus Gumboro

Nghiệm thức	Số gà thí nghiệm (con)	Số gà bệnh			Số gà chết		
		Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	P	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	P
ĐC	12	0	0,00	0,001	0	0,00	0,005
Virus	12	12	100,00		6	50,00	

ĐC: đối chứng, Virus: gây nhiễm virus Gumboro

Kết quả thí nghiệm cho thấy ở nghiệm thức đối chứng tất cả gà đều khỏe mạnh, không có gà bệnh và gà chết. Trong khi đó ở nghiệm thức gây nhiễm virus, có 100% (12/12) gà bệnh sau 3-5 ngày gây nhiễm với triệu chứng đặc trưng của bệnh Gumboro, và 6/12 (50,00%) gà chết với bệnh tích đặc trưng do virus Gumboro gây ra như cơ ngực và cơ đùi xuất huyết, túi Fabricius sưng, xuất huyết,... Kết quả này phù hợp với nhận định của Nguyễn Xuân Bình et al. (2005), các tác giả này cho rằng ở giai đoạn 3-6 tuần tuổi gà rất mẫn cảm với bệnh Gumboro, tỷ lệ gà mắc bệnh cao có thể lên đến 100% và tỷ lệ chết có thể từ 20-50%. Theo Lê Văn Năm (2004) thông thường bệnh Gumboro ở thể lâm sàng gây chết từ 5-20%, song có một số chủng có thể gây chết 40-60%. Do đó, chủng virus mà chúng tôi chọn để gây nhiễm là chủng virus có độc lực cao.

3.2 Hiệu quả phòng bệnh Gumboro của ChIFN α - B.subtilis

Kết quả khảo sát hiệu quả phòng bệnh Gumboro của ChIFN α - B.subtilis qua so sánh với hiệu quả của các sinh phẩm khác, được thể hiện bởi tỷ lệ bảo hộ và tỷ lệ sống của gà ở các nghiệm thức được trình bày qua bảng 5.

Bảng 5: Tỷ lệ gà thí nghiệm bệnh và chết theo từng nghiệm thức

Nghiệm thức	Số lượng gà (con)	Số gà được bảo hộ		Tỷ lệ sống		P
		Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)	
Vaccine	24	0	00,00 ^a	19	79,17	0,309
<i>B. subtilis</i>	24	3	12,50 ^a	21	87,50	
ChIFN α chuẩn	24	16	66,67 ^b	22	91,67	
ChIFN α - <i>B.subtilis</i>	24	19	79,17 ^b	23	95,83	

Các giá trị trong cùng một cột mang những chữ khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Kết quả bảng 5 cho thấy tỷ lệ gà được bảo hộ cao nhất (79,17%) được ghi nhận ở nghiệm thức ChIFN α - *B. subtilis*, kể đến là nghiệm thức sử dụng IFN α chuẩn (66,67%). Sai khác về tỷ lệ bảo hộ gà giữa 2 nghiệm thức này không có ý nghĩa thống kê ($P=0,330$).

Gà được sử dụng vaccine Gumboro trong thí nghiệm này hoàn toàn không được bảo hộ (0,0%), thấp hơn so với tỷ lệ bảo hộ của gà do ChIFN α (66,67) và ChIFN α -

B.subtilis (79,17%) có ý nghĩa thống kê ($P=0,001$). Điều này có thể được giải thích do vaccine Gumboro là kháng nguyên đặc hiệu chỉ có khả năng kích thích cơ thể động vật sản xuất kháng thể đặc hiệu đủ khả năng bảo vệ động vật trong thời gian nhất định, trung bình từ 2-3 tuần (Phạm Sĩ Lăng và Lê Thị Tài 2000), do đó trong thí nghiệm này do vaccine được cấp chỉ 6 giờ trước khi gây nhiễm, nên gà không có đáp ứng kháng thể đủ bảo hộ đối với virus Gumboro.

Kết quả trên chứng tỏ hiệu quả nhanh chóng của ChIFN α trong phòng bệnh. Interferon đã từ lâu được biết là những cytokine có khả năng kháng lại virus bằng việc cản trở sự tổng hợp RNA và protein của virus, trong đó quan trọng nhất là IFN α và IFN β (Tizard, 2004), kết quả của quá trình này là ngăn cản sự xâm nhiễm của virus vào tế bào mới (Baron 1970; Landolfo *et al.*, 1995; Tô Long Thành 2009). Ở gia cầm, interferon alpha gà (ChIFN α) là tác nhân chống virus đầy tiềm năng, có hoạt tính cảm ứng promotor Mx cao (Schulz *et al.*, 1995), và có tác dụng làm giảm tình trạng nhiễm virus Newcastle khi cho uống với liều cao (Marcus *et al.*, 1999), ChIFN α có khả năng phòng và trị nhiều bệnh do virus khác trên gia cầm như bệnh cúm gia cầm do virus cúm H9N2 (Meng *et al.*, 2011), virus gây bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (Pei *et al.*, 2001), ức chế sự tăng sinh khối u do Rous sarcoma virus (Plachy *et al.* 1999), có tác dụng phòng bệnh khá tốt đối với bệnh Gumboro và Newcastle trên gà thương phẩm (Mo *et al.*, 2001).

Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu *invitro* của Nguyễn Ngọc Ân *et al.*, (2010) đã chứng minh ChIFN α - *B. subtilis* có khả năng bảo vệ tế bào xơ phôi gà khi gây nhiễm với 100 TCID₅₀ virus Gumboro hoặc virus Newcastle.

Kết quả thí nghiệm cho thấy ChIFN α - *B. subtilis* có khả năng bảo vệ gà cao hơn so với ChIFN α , điều này có thể do bản chất của ChIFN α là protein do đó có thể bị các enzyme ở đường tiêu hóa như trypsin, pepsin, papain và các protease phân hủy (Otto *et al.*, 1980; Sinha *et al.*, 2005) làm giảm tác dụng của ChIFN α ; trong khi đó, ChIFN α - *B. subtilis* nhờ có *B. subtilis* ở dạng bào tử có thể chịu đựng các men protease. Ngoài ra, các nghiên cứu *in vivo* cho thấy mặc dù *B. subtilis* có vai trò giống như probiotics khi ở dạng bào tử nhưng khi vào đường ruột sẽ vẫn tiến hành chu kỳ sống, bào tử nảy mầm, sinh sản và lại sinh bào tử (Trần Thu Hoa *et al.*, 2001), điều này đã làm tăng lượng ChIFN α nên tăng tính kháng virus và bảo vệ các tế bào khỏe khác khỏi sự xâm nhiễm của virus. Ngoài ra, *B.subtilis* có khả năng tổng hợp kháng sinh, men protease, amylase, amino acid các hợp chất trao đổi khác và cả hoạt động điều hòa miễn dịch (Green *et al.*, 1999; U.S. Environmental Protection Agency 1999). Các nghiên cứu lâm sàng cho thấy *B. subtilis* gây kích thích miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào làm giảm tiêu chảy (Mazza 1994). Điều này giải thích kết quả là 0,0% (0/24) gà ở nghiệm thức sử dụng vaccine sau khi gây nhiễm virus Gumboro với 4×10^4 ELD₅₀ đều không được bảo hộ, trong khi đó những gà được cho uống *B. subtilis* trước khi gây nhiễm virus với cùng liều như trên nhưng có 12,50% (3/24) gà được bảo hộ (bảng 5).

3.3 Kết quả theo dõi triệu chứng và bệnh tích của gà thí nghiệm

Sau khi tiến hành gây nhiễm chúng tôi theo dõi triệu chứng của những gà bệnh trong các thí nghiệm, kết quả ghi nhận được trình bày qua bảng 6.

Bảng 6: Tần suất xuất hiện triệu chứng trên gà bệnh thí nghiệm (n=46)

Triệu chứng	Tần số xuất hiện triệu chứng trên gà thí nghiệm	
	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
Tiêu chảy phân trắng nhiều nước, hậu môn dính đầy phân	46	100,00
Gà ủ rũ, xù lông (nằm phủ phục)	43	93,48
Da chân khô	39	84,78
Nghẹo đầu, gục đầu vào cánh	34	73,9
Tự mổ vào hậu môn	19	40,58

n: số gà bệnh

Theo nhận định của Cosgrove (1962), Nguyễn Văn Việt (1999) và Nguyễn Bá Thành (2006) các tác giả này cho rằng gà bệnh Gumboro biểu hiện triệu chứng đặc trưng như mệt mỏi, xù lông, bỏ ăn, thường dồn về một góc. Gà tiêu chảy, phân dính vào hậu môn, phân có màu trắng có niêm dịch, hoặc nhiều nước, đôi khi có lẫn máu. Gà tự mổ vào hậu môn, gà có biểu hiện rặn suốt, da chân khô, gà nằm phủ phục, bỏ ăn, suy nhược và chết. Các triệu chứng điển hình này cũng được ghi nhận ở gà bệnh trong thí nghiệm.

3.4 Kết quả khảo sát bệnh tích qua mổ khám

Kết quả mổ khám 11 gà bệnh chết có triệu chứng bệnh Gumboro, bệnh tích đại thể được ghi nhận qua bảng 7.

Bảng 7: Tần suất xuất hiện bệnh tích trên gà thí nghiệm (n = 11)

Bệnh tích	Tần suất xuất hiện bệnh tích trên gà thí nghiệm	
	Số lượng (con)	Tỷ lệ (%)
Túi Faricius thay đổi (sung, xuất huyết, teo lại)	11	100,00
Xuất huyết cơ đùi, cơ ngực	9	81,81
Xuất huyết giữa dạ dày cơ và dạ dày tuyến	8	72,72
Thận sưng	6	54,55
Tuyến ức có điểm hoặc mảng xuất huyết	5	45,45

n: Số gà mổ khảo sát

Từ kết quả bảng 6 và 7 cho ta thấy gà thí nghiệm biểu hiện triệu chứng và bệnh tích điển hình của bệnh Gumboro như tiêu chảy phân trắng nhiều nước, gà nghẹo đầu, ủ rũ, kém ăn, tự mổ vào hậu môn. Khi mổ khám gà bệnh chết có bệnh tích tập trung chủ yếu ở các cơ quan miễn dịch và hệ cơ. Điều này chứng tỏ gà chết là do virus Gumboro gây ra.

3.5 Kết quả kiểm tra virus Gumboro bằng phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch

Kết quả kiểm tra virus Gumboro từ bệnh phẩm nội tạng gà chết trong thí nghiệm bằng phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch được ghi nhận qua bảng 8.

Bảng 8: Kết quả kiểm tra virus Gumboro từ bệnh phẩm gà bằng phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch (AGP) (n = 11)

Bệnh phẩm	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Túi Fabricius	11	11	100,00
Tuyến ức	11	11	100,00
Lách	11	11	100,00
Gan	11	11	100,00

n: Số gà khảo sát

Từ bảng 8 chúng tôi nhận thấy tất cả (100%) bệnh phẩm (túi Fabricius, tuyến ức, gan, lách) từ gà chết được kiểm tra đều cho kết quả dương tính với virus Gumboro qua phản ứng kết tủa khuếch tán trên thạch chứng tỏ tất cả gà chết đều do virus Gumboro gây ra.

3.6 Kết quả kiểm tra kháng thể kháng virus Gumboro bằng xét nghiệm ELISA

Bảng 9: Tỷ lệ gà có đáp ứng kháng thể kháng virus Gumboro bằng xét nghiệm ELISA

Nghiệm thức	Thời điểm kiểm tra	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Vaccine	Tuần 1	19	17	89,47
	Tuần 2	19	16	84,21
B. subtilis	Tuần 1	21	19	90,47
	Tuần 2	21	18	85,71
ChIFN α chuẩn	Tuần 1	22	21	95,45
	Tuần 2	22	19	86,36
ChIFN α - B. subtilis	Tuần 1	23	22	95,65
	Tuần 2	23	21	91,30

Kết quả khảo sát đáp ứng kháng thể của gà còn sống sau gây nhiễm virus Gumboro ở bảng 9 cho thấy hầu hết gà ở các nghiệm thức đều có đáp ứng miễn dịch đặc hiệu đối với virus Gumboro, tỷ lệ đáp ứng kháng thể của gà ở nghiệm thức ChIFN α và ChIFN α - B. subtilis cao hơn so với 2 nghiệm thức còn lại nhưng không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). Kết quả trên chứng tỏ mặc dù Interferon có khả năng kháng lại virus bằng việc cản trở sự tổng hợp ARN và protein của virus nhưng hoàn toàn không gây ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của gà tạo ra bởi những vaccine virus. Điều này có thể mang đến triển vọng sử dụng interferon như một tá dược trong vaccine sẽ giúp động vật có sự bảo hộ nhanh trước khi có miễn dịch lâu dài do vaccine.

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết quả thí nghiệm cho thấy sản phẩm ChIFN α - B. subtilis có hiệu quả trong phòng bệnh Gumboro cho gà khi cấp qua đường uống và hoàn toàn có thể thay thế ChIFN α ngoại nhập.

Đề nghị tiếp tục nghiên cứu hiệu quả phòng bệnh Gumboro của B. subtilis-ChIFN α với liều, đường cấp và số lần cấp khác nhau để đưa ra liệu trình phòng bệnh hiệu quả nhất. Nghiên cứu sử dụng interferon alpha và sản phẩm tái tổ hợp của nó như tá dược trong vaccine.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baron S. (1970). “The defentive role of the interferon system”, The laboratory of Viral diseases, national institute of Allergy and Infectious diseases, National institute of Health, Bethesda, Mryland, pp.193-211.
- Cosgrove A.S. (1962). “An apparently new disease of Chicken – Avian nephrosis”, *Avian Diseases*, pp. 282-287.
- Green D.H., Wakeley P.R., Page A., Barnes A., Baccigalupi L., Ricca E., and Cutting S.M. (1999). Characterization of two bacillus probiotics, *Appl. Environ. Microbiol*, 65(9), pp. 4288-4291
- Lê Văn Năm (2004). “Bệnh Gumboro ở gà và biện pháp phòng trị”. NXB Nông Nghiệp Hà Nội, tr. 1- 53.
- Landolfo S., Gribaudo G., Angeretti A., and Gariglio M. (1995). “Mechanism of viral inhibition by interferon”, *J Pharmacol and Ther*, 65(3), pp. 415-442.
- Livonesi MC, de Sousa RL, Badra SJ and Figueiredo LT. (2007). “*In vitro* and *in vivo* studies of the interferon-alpha action on distinct orthobunyavirus”. *Antiviral Res.* 75(2), pp.121-128.
- Marcus PI, van der Heide L and Sekellick M.J. (1999). “Interferon action on avian viruses. I. Oral administration of chicken interferon-alpha ameliorates Newcastle disease”. *J. Interferon Cytokine Res.* 19(8), pp.881-885.
- Meng S., Yang L., Xu C., Qin Z., Xu H., Wang Y., Sun L., Liu W. (2011). “Recombinant chicken interferon- α inhibits H9N2 influenza virus *in vivo* by oral administration”. *J. interferon Cytokyne Res.*, 20(5), pp.1-6.
- Mo C.W., Cao Y.C., and Lim B.L. (2001), “The *In Vivo* and *In Vitro* Effects of Chicken Interferon a on Infectious Bursal Disease Virus and Newcastle Disease Virus Infection”. *Avian Diseases*, 45, pp. 389-399.
- Nguyễn Bá Thành (2006). “Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh Gumboro, virus gây bệnh và đề xuất quy trình tiêm chủng vaccine phù hợp để phòng bệnh cho đàn gà tại tỉnh Đồng Nai”, Luận án tiến sĩ nông nghiệp, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh, tr. 4-43.
- Nguyễn Ngọc Ân, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Thanh Tố Nhi, Hồ Thị Việt Thu, Nguyễn Ngọc Hải và Trần Thu Hoa. (2010). “Tác dụng *invitro* kháng virus gây bệnh Gumboro và tả gà của *Bacillus subtilis* tái tổ hợp biểu hiện interferon alpha gà”. *Tuyển tập hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc khu vực phía Nam 2009*. Nhà xuất bản Khoa Học và Kỹ Thuật, trang 376-381.
- Nguyễn Văn Việt (1999). “Biện pháp khống chế bệnh Gumboro có hiệu quả”. *Chuyên san chăn nuôi gia cầm*, NXB Hội Chăn Nuôi Việt Nam, tr. 311-316.
- Nguyễn Xuân Bình, Trần Xuân Hạnh và Tô Thị Phấn (2005). “109 bệnh gia cầm và biện pháp phòng trị”. NXB Nông Nghiệp Hà Nội, tr. 156-164.
- Otto M.J., Sedmak J.J., Grossberg S.E. (1980). “Enzymatic modifications of human fibroblast and leukocyte interferons”. *Journal of Virology*, 35(2), pp.390-399.
- Pei J., Sekellick M.J. and Marcus P.I. (2001). Chicken interferon type I inhibits infectious bronchitis virus replication and associated respiratory illness”. *J Interferon Cytokine Re*, 21, pp. 1071-1077.
- Phạm Sĩ Lăng và Lê Thị Tài (2000). “Thuốc điều trị và vaccine sử dụng trong thú y”. NXB Nông Nghiệp Hà Nội, tr. 171- 180.
- Phạm Sĩ Lăng và Nguyễn Thiện (2004). “Một số bệnh mới do virus ở gia súc, gia cầm nhập nội và biện pháp phòng trị”. NXB Nông nghiệp Hà Nội, tr 170-171.
- Plachy J., Weining K.C., Kremmer E., Puehler F., Hala K., Kaspers B. and Staeheli P. (1999). “Protective effects of type I and type II interferons toward Rous sarcoma virus-induced tumors in chickens”. *J. Virol.* 256(1), pp.85-91.

- Reed L.J. and Muench H. (1938). A simple method for estimating fifty per cent endpoints. *Am.J.Hyg.*, 27, pp. 493-496.
- Ryan B., Joiner B.L. and Ryan J.R. (2000), *Minitab statistis software release 13*, Duxdury Press.
- Schulz U., Rinderle C., Sekellick M.J., Marcus P.I. and Staeheli P. (1995). “Recombinant chicken ineterferon from Escherichia coli and transfected COS cells is biologically active”, *Eur. J. Bioch.* 229(1), pp. 73–76.
- Sinha J., Plantz B.A., Inan M., Meagher M.M. (2005). “Causes of proteolytic degradation of secreted recombinant proteins produced in methylotropic yeast *Pichia pastoris*: case study with recombinant ovine interferon-T”, *Biotechnology and Bioengineering*, 89(1), pp.102-112.
- Tizard I.R. (2004). “Cytokines and the immune system”. *Veterinary immunology - An introduction*. 7th ed, Elsevier, USA, pp. 133-143.
- Tô Long Thành (2009). “Miễn dịch chống virus”, *Tap chí Khoa Học Thú Y*, 2, tr. 83-89.
- Tran Thu Hoa, Le Hoang Duc, Isticato R., Baccigalupi L., Ricca E., Phan Huynh Van and Cutting S.M. (2001). “Fate and dissemination of *B. subtilis* in murine model”. *Appl. Inv. Micr.*, pp.3819-3823.
- U.S. Environmental Protection Agency (1997). “*Bacillus subtilis* Final Risk Assessment”, http://epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra009.htm.